

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-70673

(43)公開日 平成6年(1994)3月15日

(51)Int.Cl. <sup>4</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 1 D 8/04 6/00				
C 1 2 N 1/18		7236-4B		
// (C 1 2 N 1/18 C 1 2 R 1:865)				
審査請求 有 請求項の数3(全 12 頁)				

(21)出願番号 特願平3-335528  
(62)分割の表示 特願平1-59638の分割  
(22)出願日 平成1年(1989)3月14日

(71)出願人 591031360  
農林水産省食品総合研究所長  
茨城県つくば市観音台2丁目1-2  
(71)出願人 000000033  
旭化成工業株式会社  
大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号  
(72)発明者 高野 博幸  
茨城県つくば市吾妻2-1318-702-201  
(72)発明者 日野 明寛  
茨城県つくば市竹園1410-804-303  
(72)発明者 遠藤 久則  
茨城県つくば市榎戸807-17  
(74)代理人 弁理士 久保田 藤郎

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 冷凍パン生地

(57)【要約】 (修正有)

【構成】 少なくとも強い無糖生地発酵力を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体酵母菌株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株と、無糖生地発酵力は弱いが強い冷凍耐性を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体酵母菌株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株との優性生殖交配により得られる、非冷凍下での無糖生地発酵力が140ml以上であり、かつ冷凍後の発酵力残存率が80%以上の冷凍耐性を有する二倍体交雑株をパン生地組成物に含有せしめてなる冷凍パン生地。

【効果】 フランスパン、パン粉等の糖を添加しない生地や食パン等の無糖生地から中糖生地(糖0~20%対小麦粉)における品質の優れた冷凍パン生地が提供される。上記二倍体交雑株は従来の無糖生地用パン酵母に比較し、保存性に優れ、製品の保管、輸送面でのメリットがある。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも強い無糖生地発酵力を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体酵母菌株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株と、無糖生地発酵力は弱い強い冷凍耐性を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体酵母菌株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株との優性生殖交配により得られる、非冷凍下での無糖生地発酵力（30℃、2時間の発酵で発生する炭酸ガス量）が140ml以上であり、かつ冷凍後の発酵力残存率（無糖生地を30℃で60分間発酵させた後、-20℃で7日間冷凍し、30℃で30分間解凍後、38℃で60分間の発酵で発生する炭酸ガス量を冷凍前の発酵で発生する炭酸ガス量と比較したもの）が80%以上の冷凍耐性を有する二倍体交雑株をパン生地組成物に含有せしめてなる冷凍パン生地。

【請求項2】 二倍体交雑株がサッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) FTY-3、微工研条寄第2326号 (FERM BP-2326) である請求項1記載の二倍体交雑株。

【請求項3】 パン生地組成物における砂糖添加量が小麦粉に対し0~20%である請求項1記載の冷凍パン生地。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、少なくとも強い無糖生地発酵力性で強い冷凍耐性の特徴を有する二倍体交雑株をパン生地組成物に含有せしめてなる冷凍パン生地に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 近年、冷凍パン生地は(1) 新鮮パンの提供、(2) 製パン工程の節約（労働力の節約）・夜間作業の廃止等の労務対策上の問題解決等の大きな長所から製パン分野で注目されている。冷凍パン生地はパン原料を混合、発酵、-20℃前後で凍結保存され、必要に応じてホイロ発酵を行って焼成される。通常のパン酵母は凍結前の発酵により損傷を受けやすいために、その使用は原料の砂糖、油脂、卵、乳製品等が比較的多量に配合されるようなリッチな生地において、凍結前の発酵を行わないかあるいは短時間行った場合にのみ限られている。凍結前の発酵が短時間のパン酵母の使用の場合には、解凍してホイロ発酵直後焼成すると、生地の焼成が不十分となってパン独特の風味や味覚が損なわれる欠点がある。また、解凍後に生地をホイロ発酵させ熟成させるならば、製パン工程に長時間の発酵工程を要し、冷凍パン生地の利点が失われる。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】 そこで、冷凍パン生地製造に際しては、発酵後凍結保存しても損傷を受けにくい冷凍耐性の優れたパン酵母が必要とされてきた。冷凍耐性の優れたパン酵母として報告されているものとして

は、サッカロミセス・ロゼイ（特公昭59-25584号公報）、サッカロミセス・セレビシエ FTY (FRI-413) (特公昭59-48607号公報)、サッカロミセス・セレビシエ IAM4274 (特開昭59-203442号公報) 等がある。サッカロミセス・ロゼイおよびサッカロミセス・セレビシエ FTY (FRI-413) は何れもマルトース発酵力が弱く、フランスパンや食パン等、すなわち無糖生地から中糖生地（糖0~20%対小麦粉）の冷凍パン生地に適しておらず、またサッカロミセス・セレビシエ IAM4274 はマルトース発酵力は有しているものの、リーンブレッド等の無糖生地から中糖生地（糖0~20%対小麦粉）中での冷凍耐性が不十分であった。また、サッカロミセス・ロゼイは一般の酵母と比較して菌の直径が小さいために製造工程における酵母の分離、洗浄、脱水操作に長時間を要するという欠点があった。また、マルトース発酵力を有し、リーンブレッドの生地にも適用できる冷凍耐性の優れたパン酵母として報告されているものとしては、サッカロミセス・セレビシエ KYF110 (特開昭62-208273号公報)、細胞融合法により得た高いマルトース発酵力と強い冷凍耐性を有する融合株サッカロミセス・セレビシエ 3-2-6D (特開昭63-294778号公報) が挙げられるが、いずれも十分に満足のできる効果を得られるものではなかった。以上の通り、無糖生地ないし中糖生地に対して強い生地発酵力を有し、かつ優れた冷凍耐性を備えたフランスパンやパン粉等の糖を添加しない生地や食パン等に適するパン酵母がなく、その冷凍パン生地製パンの実施が困難であった。

【0004】 また、現在市販されている従来の無糖生地用パン酵母は、糖含量の高い菓子パン（糖30%対小麦粉）から糖含量の低い食パン（糖5%対小麦粉）まで広範囲に使用されている強い高糖生地発酵力と中程度の無糖生地発酵力を有する普通酵母に比べ、製品保存中の発酵力活性低下が早く、保存性に問題があった。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記問題点を解決すべく鋭意研究を行った結果、現在一般に用いられている少なくとも強い無糖生地発酵力を有する二倍体酵母菌株（以下、二倍体株ということがある）の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株（以下、一倍体株ということがある）と、強い冷凍耐性を有するが無糖生地発酵力が弱いためにリーンブレッド等の冷凍生地での使用が困難であるサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体株の胞子を発芽させて得た一倍体株との有性生殖交配により、従来の無糖生地用パン酵母に比較し同等もしくは同等以上の無糖生地から中糖生地（糖0~20%対小麦粉）における発酵力を有し、さらに強い冷凍耐性とを兼ね備えた二倍体交雑株を得た。該二倍体交雑株をパン生地組成物に含有せしめることにより、通常の無糖生地ないし中糖生地用のパン酵母としても利用できることを

知り、特に冷凍パン生地として利用することによりフランスパン、パン粉等の糖を添加しない生地や食パン等の無糖生地から中糖生地(糖0~20%対小麦粉)における冷凍パン生地製パンを提供できることを知見した。

【0006】また、得られた二倍体交雑株は、市販の無糖生地用パン酵母に比較して、製品保存中の発酵力活性の低下が遅く、また低下率も小さく、保存性に優れたものであった。

【0007】本発明は以上の知見により完成されたものであり、少なくとも強い無糖生地発酵力を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体酵母菌株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株と、無糖生地発酵力は弱い強い冷凍耐性を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体酵母菌株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株との有性生殖交配により得られる、非冷凍下での無糖生地発酵力(30℃、2時間の発酵で発生する炭酸ガス量)が140ml以上であり、かつ冷凍後の発酵力残存率(無糖生地を30℃で60分間発酵させた後、-20℃で7日間冷凍し、30℃で30分間解凍後、38℃で60分間の発酵で発生する炭酸ガス量を冷凍前の発酵で発生する炭酸ガス量と比較したもの)が80%以上の冷凍耐性を有する二倍体交雑株をパン生地組成物に含有せしめてなる冷凍パン生地である。

【0008】本発明の冷凍パン生地に用いる二倍体交雑株は、2種の親株、即ち少なくとも強い無糖生地発酵力を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体株の胞子を発芽させて得た一倍体株と、強い冷凍耐性を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体株の胞子を発芽させて得た一倍体株との有性生殖交配により得られる二倍体交雑株であり、サッカロミセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)FTY-3、微工研条寄第2326号(FERM BP-2326)として工業技術院微生物工業技術研究所に寄託されているが、本発明の効果はこの菌株のみに限定されるものではない。

【0009】まず、本発明で用いられる親株の1つである少なくとも強い無糖生地発酵力を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体株としては、市販されている無糖生地用パン酵母またはそれと同程度の無糖生地発酵力を有するが、冷凍耐性の弱いパン酵母であればよい。例えば、無糖生地用酵母として市販されているサッカロミセス・セレビシエKB-3(東洋醸造(株)製、商品名“45赤イースト”)が挙げられる。また、もう一方の親株である強い冷凍耐性を有するサッカロミセス・セレビシエに属する二倍体株としては、通常リッチなパンの冷凍生地として使用しているパン酵母と同程度の冷凍耐性をもつ酵母であり、無糖生地発酵力は弱い強い冷凍耐性を有するパン酵母であればよく、例えば、サッカロミセス・セレビシエFTY(FRI-413)(FERM P6363, FERM BP-2743)等が該当する。

【0010】このサッカロミセス・セレビシエの一般的な性質は、以下に挙げる特徴を有するものであり、以上に例示した3つの酵母菌株である、サッカロミセス・セレビシエFTY-3、サッカロミセス・セレビシエKB-3、サッカロミセス・セレビシエFTYは、いずれもこのサッカロミセス・セレビシエの特性を有するものである。

#### 【0011】

10	発酵性	グルコース (glucose)	+
		ガラクトース(galactose)	+
		サッカロース(sucrose)	+
		マルトース (maltose)	+
		ラクトース (lactose)	-
	資化性	グルコース (glucose)	+
		ガラクトース(galactose)	+
		サッカロース(sucrose)	+
		マルトース (maltose)	+
		ラクトース (lactose)	-
		ラフィノース(raffinose)	+
20	水溶性デンプン(soluble starch)		
	"Certified" (Difco社製Lot0178-15)		+
	硝酸塩(KNO <sub>3</sub> )		-
	ビタミン要求性	ビオチン(biotin)	+
		葉酸(folic acid)	-
		ニコチン酸(nicotinic acid)	-
		チアミン(thiamin)	-
		リボフラビン(riboflavin)	-
		パントテン酸カルシウム	
	(Ca-pantothenate)		+
30	イノシトール(inositol)		±
	ピリドキシン(pyridoxine)		±
	パラアミノ安息香酸		
	(p-aminobenzoic acid)		-

【0012】次いで、上記2つの親株からそれぞれの一倍体株を分離するに当たっては、例えば、まず各々の親株を栄養培地で予備増殖せしめた前培養菌体を酢酸ナトリウムまたは酢酸カリウムを含む孢子形成培地に接種し、20℃~25℃で2日~7日間放置し孢子を形成せしめ、孢子形成菌体を細胞壁溶解酵素液に懸濁し、30℃で30分~1時間放置する。酵素処理後、マイクロマニピュレーターを用いて子嚢より孢子を分離する。分離した孢子は栄養培地上に置き、30℃で培養して発芽せしめ一倍体株を得る。得られた一倍体株の接合型は、例えば既知接合型一倍体株と混合し、接合の有無で決定する。有性生殖交配に当たっては、「蛋白質・核酸・酵素、Vol. 12 No. 12 P. 1096-1099; 郡家徳郎著(1967)」の交配法に従い、2つの親株より分離したそれぞれの一倍体株を各々栄養培地中で30℃で4~8時間培養し、各々等量の培養液を混合し、30℃で放置し、接合子を形成させる。形成した接合子をマイクロマニピュ

レーターで分離した後培養し、上記2つの親株の性質を併せ持つ二倍体交雑株の選別を繰り返した後、目的の二倍体交雑株であるサッカロミセス・セレビシェFTY-3株を取得する。さらに、本二倍体交雑株をタンク培養した後、脱水集菌することにより水分63~73%の製パン用酵母を得ることができる。

【0013】次いで、本発明の冷凍パン生地配合に当たっては、生地配合として例えば小麦粉、砂糖、食塩、油脂、脱粉、卵、イーストフード、酵母、水等の生地成分の中から適宜用いられ、砂糖が小麦粉に対し0~20%配合されたパン生地組成物に、上記で得られる二倍体交雑株サッカロミセス・セレビシェFTY-3株を水分70%の圧搾菌体として小麦粉に対し通常1~10%を使用すればよい。

【0014】本発明の冷凍パン生地を得るに当たっては、例えば、食パン用冷凍パン生地の調製について述べると、直捏法（ストレート法）では、通常生地配合→混捏→フロアタイム→分割→丸目→ベンチタイム→成型→凍結の工程で調製され、中種法では、通常生地配合→混捏→一次発酵→（生地成分追加）本捏→フロアタイム→分割→丸目→ベンチタイム→成型→凍結の工程で調製される。また、例えば直捏法ではフロアタイムを0~240分とした後、冷凍は一般に常圧、-15℃~-40℃にて行われる。

【0015】本発明の冷凍パン生地を使用して製造したパンは、通常のパン酵母含有の冷凍パン生地を使用して製造した製パンに比べて、外観、比容積、内相、風味ともに優れている。尚、本発明の冷凍パン生地は、食パン用、フランスパン用、パン粉用、菓子パン用、ブドウパン用等種々の無糖生地~中等生地のパン生地に適用できる他、中華饅頭、イーストドーナツ等にも適用できる。

#### 【0016】

【実施例】次に、本発明の実施例を挙げるが、本発明は何らこれらによって限定されるものではない。

参考例1 【有性生殖交配】

#### ①前培養

強い無糖生地発酵力を有するサッカロミセス・セレビシェKB-3（東洋醸造（株）製、商品名“45赤イースト”）菌体および強い冷凍耐性を有するサッカロミセス・セレビシェFTY（FRI-413）（FERM B P-2743）菌体をそれぞれYPD寒天平板培地に接種し、30℃で24時間前培養した。

YPD培地組成（pH 5.5）

酵母エキス（Difco 社製Lot012701）	5g
ペプトン（Difco 社製Lot018802）	10g
グルコース（和光純薬社製特級）	40g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> （和光純薬社製Lot. CTJ3919）	5g
MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O（和光純薬社製Lot. CTP2140）	2g
寒天（Difco 社製Lot014001）	20g
蒸留水	1000ml

#### 【0017】②孢子形成

Sherman 寒天平板培地にそれぞれの前培養菌体を接種し、25℃で6日間の培養で孢子形成が起きた。

Sherman 培地組成（pH 7.2）

酢酸カリウム（和光純薬社製特級）	1g
酵母エキス（Difco 社製Lot012701）	0.1g
グルコース（和光純薬社製特級）	0.05g
寒天（Difco 社製Lot014001）	2g
蒸留水	100ml

#### 10 【0018】③孢子分離

孢子形成菌体をそれぞれ一白金耳、細胞壁溶解酵素液（キリンビール（株）製、商品名“ザイモリエイス（Zymolyase）-20T”β-1,3-glucan laminaripentaohydrolase; 2~3U/ml）2ml中に懸濁し、30℃で30分~1時間放置した。酵素処理後、マイクロマニピュレーターを用いて子嚢より孢子を分離した。

#### 【0019】④発芽、一倍体株の取得

分離した孢子をYPD寒天平板培地上にそれぞれ置き、30℃で培養し、発芽せしめ一倍体株を得た。得られた一倍体株の接合型は、既知接合型一倍体株と混合し、接合の有無で決定した。

#### 【0020】⑤有性生殖交配

①~④で得られた、強い無糖生地発酵力を有する二倍体株の孢子を発芽させて得た一倍体株と、強い冷凍耐性を有する二倍体株の孢子を発芽させて得た一倍体株のそれぞれの一倍体株を、YPD液体培地（上記YPD培地組成から寒天を除いた培地）中で30℃で4~8時間培養し、それぞれ等量の培養液を混合し、30℃で放置し、接合子を形成せしめた。

30 【0021】形成した接合子をマイクロマニピュレーターで分離した後培養し、次いでマルトースを糖源とする寒天平板培地を用いてコロニーを形成させ、その上に同寒天培地を重層して発酵せしめ、コロニーの周囲の炭酸ガス発生量が優れたものを選別した。この一次選別したコロニーを糖蜜を糖源とする液体培地中で培養し、得られた菌体を-20℃で7日間冷凍し、解凍後、マルトースを糖源とする液体培地中で発酵せしめ、炭酸ガス発生量の優れた菌体を選別した。さらに、この二次選別した菌体を無糖生地に適用させて冷凍パン生地を作り、解凍後、該パン生地の炭酸ガス発生量の優れた菌体を選別し、これらの工程を経て、目的の二倍体交雑株であるサッカロミセス・セレビシェFTY-3株（以下、単にFTY-3株という。）を取得した。

#### 【0022】参考例2 無糖生地発酵力

それぞれの菌株での下記配合生地における30℃で2時間の発酵で発生する炭酸ガス量を測定し、第1表に比較した。また10分毎の炭酸ガス発生量を第1図に示した（普通生地用酵母——△——、無糖生地用酵母——●——、FTY-3株——□——、FTY（FRI-413）——▲——）。

【0023】表から明らかなように、FTY-3株は、強い無糖生地発酵力の目安とされる140ml以上の発酵力を有している。

【0024】（無糖生地配合）

小麦粉（日清製粉（株）製強力粉“カメリア”）20g  
食塩 0.3g  
酵母 0.4g  
水 13ml

以降の参考例および実施例では同種の小麦粉を用いた。

【0025】

【表1】

第1表

	ガス発生量
普通生地用酵母	78ml
無糖生地用酵母	152ml
FTY-3株	161ml
冷凍耐性酵母	82ml
FTY(FRI-413)	32ml

【0026】尚、比較に用いた各々の酵母については以下の通りであり、以降の参考例3～8および実施例1における酵母はこれらから適宜用いた。

・普通生地用酵母・サッカロミセス・セレビシエ23 7NG（東洋醸造（株）製、商品名“45イース”）

第2表

	ガス発生量 低糖生地	ガス発生量 中糖生地
普通生地用酵母	125ml	220ml
無糖生地用酵母	132ml	195ml
FTY-3株	136ml	215ml
冷凍耐性酵母	120ml	200ml

【0030】尚、FTY-3株は、無糖生地～中糖生地発酵力と比べ高糖生地に対する発酵力は弱いものであった。

【0031】参考例4 冷凍耐性（無糖生地）

参考例2と同様の無糖生地を30℃で60分間発酵させた後、-20℃で7日間冷凍し、30℃で30分間解凍後、38℃で60分間の発酵で発生する炭酸ガス量を測

\*ト”）。

・無糖生地用酵母・サッカロミセス・セレビシエKB-3（東洋醸造（株）製、商品名“45赤イースト”）。

・冷凍耐性酵母・市販冷凍耐性酵母。

・FTY(FRI-413)・サッカロミセス・セレビシエFTY(FRI-413)(FERM P-6363, FERM BP-2743)。

【0027】参考例3 低糖、中糖生地発酵力

10 下記生地配合の低糖生地（糖5%対小麦粉）、中糖生地（糖20%対小麦粉）における30℃で2時間の発酵で発生する炭酸ガス量を測定し、第2表に比較した。

【0028】

【表2】

（配合）

	低糖生地	中糖生地
小麦粉（同上）	20g	20g
食塩	0.3g	0.3g
砂糖	1g	4g
酵母	0.4g	0.4g
水	12.4ml	10ml

【0029】

【表3】

40 定し、第3表に比較した。

【0032】表から明らかなように、FTY-3株は、冷凍後の発酵力残存率が80%以上という強い冷凍耐性を有している。

【0033】

【表4】

第3表

	ガス発生量 冷凍前	ガス発生量 冷凍後
普通生地用酵母	85ml	35ml
無糖生地用酵母	105ml	40ml
F T Y - 3 株	108ml	88ml
冷凍耐性酵母	82ml	65ml

【0034】参考例5 冷凍耐性（低糖生地） \*測定し、第4表に比較した。  
 参考例3と同様の低糖生地を30℃で60分間発酵させ 【0035】  
 た後、-20℃で7日間冷凍し、30℃で30分間解凍 【表5】  
 後、30℃で120分間の発酵で発生する炭酸ガス量を\*

第4表

	ガス発生量 冷凍前	ガス発生量 冷凍後
普通生地用酵母	140ml	42ml
無糖生地用酵母	150ml	45ml
F T Y - 3 株	154ml	118ml
冷凍耐性酵母	142ml	85ml

【0036】参考例6 保存性 ※を測定し、第5表に比較した。  
 無糖生地用酵母とF T Y - 3 株の各々の菌体における製 【0037】  
 造直後と25℃で4日間の保存後の発生する炭酸ガス量※ 【表6】

第5表

	ガス発生量 製造直後	ガス発生量 保存後
無糖生地用酵母	150ml	90ml
F T Y - 3 株	161ml	142ml

【0038】参考例7 孢子形成および発芽率  
 YM寒天平板培地（85mm径滅菌シャーレに10ml）に火炎  
 滅菌した白金耳を用いて参考例2に示した各酵母菌体を 40  
 薄く塗り付け、30℃で24時間の前培養後、さらに火  
 炎滅菌した白金耳を用いてそれぞれの菌体を上記のSher  
 man 寒天平板培地（85mm径滅菌シャーレに10ml）に薄く  
 塗り付け25℃で7日間放置した。

【0039】放置後、菌体をMoeller氏法により染色  
 （「酵母の分類同定法（第2版）」、p.17-18, 1969.3.2  
 1 発行、（東大出版会、飯塚廣、後藤昭二著））し、顕  
 微鏡を用いて細胞100個当たりの孢子形成子囊数を確  
 認し、計測した。

【0040】その後、滅菌試験管（18mm径）に注入した 50

滅菌濾過した細胞壁溶解酵素液（ザイモリエース-20T3m  
 g/ml, 0.05M トリス-塩酸緩衝液, pH7.5）2mlに孢子形  
 成菌体を1白金耳懸濁し、30℃で1時間放置後、3000  
 rpm で10分間遠心分離し、さらに滅菌水で2回洗浄  
 後、滅菌水2mlに懸濁した。次に、マイクロマニピュ  
 レーターを用い、酵素処理菌体より孢子分離を行い、酵  
 母用合成培地であるYNB寒天平板培地上において30  
 ℃で発芽させた。孢子は子囊中に4個形成しているもの  
 から100孢子を分離した。

【0041】YM培地組成 (pH5.6)

酵母エキス (Difco 社製Lot012701) 0.3g  
 グルコース (和光純薬社製特級) 1g  
 麦芽エキス (Difco 社製Lot0186015) 0.3g

ペプトン (Difco 社製Lot018802) 0.5g  
寒天 (Difco 社製Lot014001) 2g  
蒸留水 100ml

【0042】YNB培地組成〔「遺伝学実験法講座③, 微生物遺伝学研究法」, p. 186-188, 1982. 3. 10発行, (共立出版, 石川辰夫編) のBacto-Yeast Nitrogen Baseを参照〕(pH 5. 6)

YEAST NITROGEN BASE(Difco 社製Lot760960)0. 67g

グルコース (和光純薬社製特級) 2g

寒天 (Difco 社製Lot014001) 2g

蒸留水 100ml

【0043】上記実験による各酵母菌体の胞子の形成率および胞子の発芽率を第6表に示す。

【0044】

【表7】

第6表

菌株	胞子形成率 (%)	発芽率 (%)
普通生地用酵母	2	4
無糖生地用酵母	20	10
FTY-3株	14	<1
冷凍耐性酵母	12	5
FTY(FRI-413)	2	8

【0045】以上の通り、FTY-3株は、上記の酵母用合成培地であるYNB培地において、その胞子の発芽率30が極めて低率である特性がみられ、他の菌株と区別して認識し得た。

【0046】参考例8 FTY-3株の血清学的性質 FTY-3株を抗原として得られた家兎の抗血清について、参考例2に示した各酵母菌体に対する免疫特性を調べた。また、抗原、抗体、交叉吸収法による特異抗体の作成法、および凝集反応の検出方法については次の通りである。

【0047】抗原：FTY-3株を生理食塩水に約10<sup>10</sup>細胞/mlの濃度になるように懸濁し、80℃で30分

間加熱殺菌し、次いで1000rpmで5分間遠心分離し、上清50mlを得た。

【0048】抗体：6週齢日本白色種家兎5匹に対し、上記の抗原1mlを各々耳静脈から注射器により投与した。さらに4日間隔で2mlを1回、5mlを3回投与し、最終免疫の日から8日目に頸動脈より採血した。全血を3000rpmで15分間遠心分離し、各々約20mlの抗血清を得た。この抗血清10mlに飽和硫酸液5mlを加え、5℃で1晩放置後、5000rpmで15分間遠心分離し、得られたγグロブリンの沈澱を生理食塩水に溶解透析後、蛋白質濃度を20mg/mlに調整し、抗体液(A)とした。

【0049】交叉吸収法による特異抗体：抗体液(A)の各々2mlに普通生地用酵母(サッカロミセス・セレビシェ237NG)を300mgづつ加え、5℃で15分間反応せしめた後、遠心分離し、上清を得た。得られた上清と普通生地用酵母との凝集反応を行い、凝集反応を起こさなくなるまでこの操作を繰り返した後、生理食塩水で希釈し、蛋白質濃度を10mg/mlに調製して交叉吸収抗体液(B)を得た。

20 【0050】また、普通生地用酵母の代わりに無糖生地用酵母(サッカロミセス・セレビシェKB-3)を用いて同様の操作を行い、さらに蛋白質濃度を10mg/mlに調製して交叉吸収抗体液(C)を得た。

【0051】次いで、(C)の抗体液をFTY-3株で吸収処理し、蛋白質濃度を10mg/mlに調製して、交叉吸収抗体液(D)を得た。

【0052】凝集試験方法：各々の酵母菌体を生理食塩水に約10<sup>8</sup>細胞/mlになるように懸濁し、96穴マイクロタイタープレートに40μlづつ分注し、各々抗体液(A)、交叉吸収抗体液(B)～(D)を各々40μl加え、5分間振盪した後、30分間放置し、凝集塊の生成の有無を調べた。交叉吸収処理を行わない抗体液(A)の凝集試験の結果を第7表、交叉吸収抗体液(B)の結果を第8表、交叉吸収抗体液(C)の結果を第9表、交叉吸収抗体液(D)の結果を第10表にそれぞれ示した。尚、正常血清は未処理家兎からの血清である。

(+：凝集塊を生成、-：凝集塊を生成しない)

【0053】

【表8】

13  
(A)

第7表

14

	抗 体 液					正常血清
	1	2	3	4	5	
普通生地用酵母	+	+	+	+	+	-
無糖生地用酵母	+	+	+	+	+	-
FTY-3株	+	+	+	+	+	-
冷凍耐性酵母	+	+	+	+	+	-
FTY(FRI-413)	+	+	+	+	+	-

【0054】

(B)

\* \* 【表9】  
第8表

	抗 体 液					正常血清
	1	2	3	4	5	
普通生地用酵母	-	-	-	-	-	-
無糖生地用酵母	-	+	+	-	-	-
FTY-3株	-	+	+	+	-	-
冷凍耐性酵母	-	-	-	-	-	-
FTY(FRI-413)	-	+	+	+	-	-

【0055】

(C)

※ ※ 【表10】  
第9表

	抗 体 液					正常血清
	1	2	3	4	5	
普通生地用酵母	-	-	-	-	-	-
無糖生地用酵母	-	-	-	-	-	-
FTY-3株	-	+	+	+	+	-
冷凍耐性酵母	-	-	-	-	-	-
FTY(FRI-413)	-	+	+	+	-	-

【0056】

【表11】



	抗体液					正常血清
	1	2	3	4	5	
普通生地用酵母	-	-	-	-	-	-
無糖生地用酵母	-	-	-	-	-	-
FTY-3株	-	-	-	+	+	-
冷凍耐性酵母	-	-	-	-	-	-
FTY(FRI-413)	-	-	-	-	-	-

## 【0057】実施例1 製パン試験

## ① フランスパン

## 配合

小麦粉 (同上)	100 g
酵母	4 g
イーストフード (東洋醸造 (株) 製 "アミラC")	0.1 g
モルトエキス (三共フーズ (株) 製 "三共モルトエキスB <sub>2</sub> ")	0.3 g
食塩	2 g
水	63 ml

## 【0058】操作 (直捏法)

発酵時間	60分	* ホイロ	30℃・60分
分割	100 g	焼成	230℃・15分
ベンチタイム	20分	結果を第11表に示す。	
冷凍	成型冷凍-20℃	【0059】	
解凍	30℃・60分	【表12】	

\*

第11表

	パンの容積 非冷凍	パンの容積 冷凍7日	パンの容積 冷凍14日
無糖生地用酵母	350 ml	270 ml	250 ml
FTY-3株	360 ml	310 ml	300 ml
冷凍耐性酵母	310 ml	280 ml	275 ml

## 【0060】② 食パン (糖5%対小麦粉)

配合		40 発酵時間	40分
小麦粉 (同上)	100 g	分割	50 g
酵母	4 g	冷凍	成型冷凍-20℃
イーストフード (同上)	0.1 g	解凍	30℃・90分
油脂	5 g	ホイロ	38℃・40分
砂糖	5 g	焼成	200℃・35分
食塩	2 g	結果を第12表に示す。	
水	65 ml	【0062】	
		【表13】	

## 【0061】操作 (直捏法)

第12表

	パンの容積 非冷凍	パンの容積 冷凍7日	パンの容積 冷凍14日
無糖生地用酵母	285 ml	180 ml	145 ml
FTY-3株	290 ml	265 ml	230 ml
冷凍耐性酵母	280 ml	230 ml	195 ml

【0063】③ バターロール (糖10%対小麦粉)

\* 分割 50g

配合

第一ベンチタイム 10分

小麦粉 (同上)

100g

第二ベンチタイム 10分

酵母

4g

成型

イーストフード (同上)

0.1g

冷凍

成型冷凍-20℃

油脂

10g

解凍

30℃・30分

砂糖

10g

ホイロ

38℃・40分・湿度80%

全卵

10g

焼成

200℃・10分

食塩

1.5g

結果を第13表に示す。

水

48ml

20 【0065】

【0064】操作 (直捏法)

【表14】

発酵時間 45分

\*

第13表

	パンの容積 非冷凍	パンの容積 冷凍7日	パンの容積 冷凍14日
普通生地用酵母	255 ml	185 ml	130 ml
FTY-3株	270 ml	255 ml	240 ml
冷凍耐性酵母	250 ml	220 ml	170 ml

【0066】④ 菓子パン (糖15%対小麦粉)

分割 50g

配合

ベンチタイム 15分

小麦粉 (同上)

100g

脱粉

3g

冷凍

成型冷凍-20℃

酵母

4g

全卵

8g

解凍

30℃・30分

イーストフード (同上)

0.1g

油脂

8g

ホイロ

38℃・50分

砂糖

15g

食塩

1.3g

焼成

200℃・10分

水

50ml

結果を第14表に示す。

【0067】操作 (直捏法)

40 【0068】

発酵時間 40分

【表15】

第14表

	パンの容積 非冷凍	パンの容積 冷凍7日	パンの容積 冷凍14日
普通生地用酵母	280 ml	250 ml	240 ml
FTY-3株	282 ml	278 ml	273 ml
冷凍耐性酵母	270 ml	265 ml	260 ml

【0069】⑤ 菓子パン（糖20%対小麦粉）

\* 分割 50g

配合

ベンチタイム 15分

小麦粉（同上） 100g 脱粉 3g

冷凍 成型冷凍-20℃

酵母 5g 全卵 8g

解凍 30℃・30分

イーストフード（同上）0.1g 油脂 8g

ホイロ 38℃・50分

砂糖 20g 食塩 1.3g

焼成 200℃・10分

水 48ml

結果を第15表に示す。

【0070】操作（直捏法）

【0071】

発酵時間 60分

【表16】

第15表

	パンの容積 非冷凍	パンの容積 冷凍7日	パンの容積 冷凍14日
普通生地用酵母	300 ml	265 ml	242 ml
FTY-3株	293 ml	292 ml	290 ml
冷凍耐性酵母	276 ml	270 ml	265 ml

【0072】

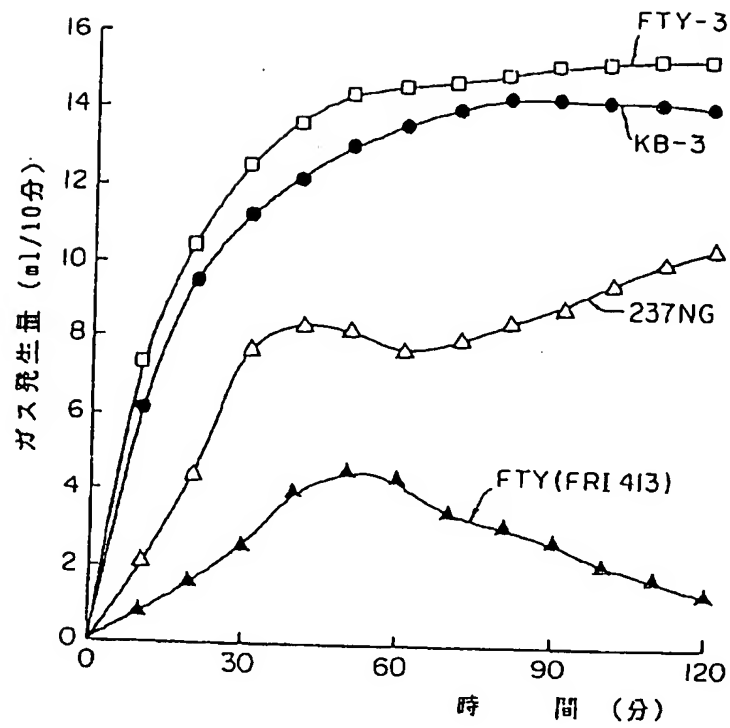
30 従来の無糖生地用パン酵母に比較し、保存性に優れ、製品の保管、輸送面でのメリットも提供し得る。

【発明の効果】本発明によれば、フランスパン、パン粉等の糖を添加しない生地や食パン等の無糖生地から中糖生地（糖0～20%対小麦粉）における品質の優れた冷凍パン生地が提供される。特に、本発明に係る二倍体交雑株を通常は無糖生地用パン酵母として使用する場合、

【図面の簡単な説明】

【図1】 参考例2の無糖生地における10分毎の炭酸ガス発生量を示す。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 中川 信明  
静岡県田方郡大仁町大仁865-8

(72)発明者 佐藤 明男  
静岡県三島市光ヶ丘1-17-14